

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 03-251510 (JP, 7-91169, B2)  
(43)Date of publication of application : 11.11.1991

---

(51)Int.Cl.

A01N 63/00

---

(21)Application number : 02-046646

(71)Applicant : ASAHI KAGAKU KOGYO KK  
KOKEN CO LTD  
SAKOTA KAGAKU KAIHATSU  
KENKYUSHO:KK

(22)Date of filing : 26.02.1990

(72)Inventor : OHARA NORIO  
ASO TAKESHI  
SAKOTA NAOICHI

---

(54) PLANT GROWTH REGULATOR

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain the title plant growth regulator promoting growth, harvesting crops in a shorter period, showing excellent plant growth regulating action of increasing an amount of harvest, comprising a peroxidase as an active ingredient, by application to leafy vegetables, fruit vegetables and grains or seed immersion.

CONSTITUTION: A plant growth regulator comprising a peroxidase, which is a heme protein containing ferric ion and an enzyme of catalyzing oxidation of various compounds in the presence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> or an organic peroxide, as an active ingredient. The peroxidase is obtained by extracting from a peroxidase-containing plant such as horseradish, Japanese radish, fig, rice hulls and purifying. Foliar treatment, seed immersion, immersion treatment by cutting in the case of cuttage, etc., as a method for use. A period for use is preferably from vegetative stage to reproductive stage. The amount of the plant growth regulator used is 1-2,000ppm as concentration of the agent in foliar treatment of aqueous solution and 1-2,000ppm in seed immersion.

---

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

English Translation of JP, 03-251510, A (JP, 7-91169, B2)

\* NOTICES \*

1. This document has been translated by computer using translation software, PAT-Transer V7 produced by Cross Language Inc. So the translation may not reflect the original precisely.
  2. The word which can not be translated is expressed by Japanese character.
  3. The drawings and tables are not translated.
- 

[Claims for the Patent]

[claim 1]

The plant growth accelerator which contains a gene oxidation enzyme as an active principle substantially in the range where operation of ethylene does not appear.

[Detailed Description of the Invention]

[Industrial Application Field]

The present invention relates to a plant growth accelerator. The plant growth accelerator which assumes a gene oxidation enzyme an active principle is related to in detail.

[Prior Art]

As a plant growth regulator, plant hormone such as auxin, gibberellin, cytokinin, ethylene is known to the public conventionally. These plant hormone can bring various effects with a very small amount as against a plant, but on the other hand when it is superabundant, and it is given, bad influence is given, there is a problem to have to decide a kind and the application density of a hormone by a growth stage of a plant and a kind of a plant, an environmental difference to surround closely again.

[Problems to be solved by the Invention]

It is for a problem to be solved by the invention to solve the drawback of an accelerant promoting plant growth among conventional plant growth regulators in particular.

[Means to solve the Problems]

As a result of a plant growth accelerator was done, and a superior thing of the promotion operation should have been found, and having repeated a study zealously to solve the problems that people of present invention mentioned above, a gene oxidation enzyme found a thing having plant growth promotion operation, and the present invention became finish.

Operation of [invention and constitution]

A gene oxidation enzyme is distributed over a plant organization, an animal organization, blood widely, is confirmed that some microbes secrete conventionally. A study is made about an existing gene oxidation enzyme for a long time in particular in that all over the plant organization, about a role of the physiology, many reports are done. When they are summarized, it seems to be next.

(1) That activity of the soft-headed oxidation enzyme which is included all over the organization when a plant body is infected with disease-causing germs rises is reported. For the operative example, reports such as gene oxidation enzyme activity rising in the soy bean

organization which infected par oxidation enzyme, cellulase, catalase, enzyme activity such as ポリガラクトキシロナーゼ rising, activity of a par oxidation enzyme rising with increase of a content of carbohydrates and reducing sugar in the tomato leaf which infected a tomato mosaic virus, a soy bean mosaic virus in the latter period of infection can be given in organizations of the navel orange which infected so-called black rot such as *Phytophthora citrophthora* or *Diplodia natalensis*.

(2) That activity of a gone oxidation enzyme is high in the kind that resistance as opposed to plant disease-causing germs is high is reported. When it crawled in a thing, the paddy-rice which there were gone oxidation enzyme and protein peculiar to the dove pea which showed resistance to 不稔性 mosaic as the operative example, and a high kind of resistance and a low kind older brother rice cake disease-causing bacteria were inoculated for exobasidium disease, rise speed of par oxidation enzyme activity in the whole organization of the former compares with in the latter, and reports such as rapid things can be given.

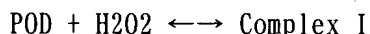
(3) The report that a gone oxidation enzyme is related to in secretion of plant hormone, regulation is made. When endogeny ethylene generation and fallen leaves process what is inhibited, a rice leaf at auxin and ethylene without a soft-headed oxidation enzyme being activated with a non-susceptibility hinoki スミチオン (an insecticide) by スミチオン when it is processed so that rather is obstructed, as the operative example, par oxidation enzyme activity rises to a hinoki, reports such as activity of a par oxidation enzyme and a polyphenol oxidation enzyme of the whole rind of a fruit rising because an attack processes inhibited thing, Lacey at a very small amount of ethylene can be given.

(4) A report to suggest that a gone oxidation enzyme participates in differentiation and growth of a plant is done, as extension and differentiation of a root of a plant advance to indoleacetic acid oxidation activity of a par oxidation enzyme, it is to develop.

Various reports are made about behavior of a gone oxidation enzyme in the whole plant composition as things mentioned above, but a report on reaction of a plant body when a direct par oxidation enzyme was given a plant body and the seed is not done. Thus, as for the people of present invention, the outside gives a plant body and the seed a gone oxidation enzyme, as a result of having observed the reaction, a gone oxidation enzyme discovers a thing having plant growth promotion operation, the present invention became finish.

In addition, it is wide, and operation to promote growth of a plant is said with plant growth promotion operation here, for example, promotion of growth of a plant, promotion of germination rooting, enlargement promotion of fruit, yield increase of cereals can be exemplified.

A gone oxidation enzyme hanging to the present invention next is explained. A gone oxidation enzyme is hemoprotein including an iron ion of 3 values, and it is the enzyme that a catalyst does the oxidation of various kinds of compounds in the presence of oxygenated water and organic peroxide. For example, Chance explains an action machine product of a gone oxidation enzyme of West wasabi as follows.



Complex I + AH  $\rightarrow$  Complex II + A

Complex II + AH  $\rightarrow$  POD + A + 2H<sub>2</sub>O

It is a POD: gone oxidation enzyme here

An AH: reduction type donor

An A: oxidized form donor

A gone oxidation enzyme is the enzyme that a catalyst does oxidation reaction of various kinds of compounds in the presence of a peroxide in this way. When a par oxidation enzyme was deactivated by heat-treating to confirm that this plant growth promotion operation depends on a soft-headed oxidation enzyme next, the thing which is not heat-treated is given a plant, those plant growth promotion operation was observed. As a result, as for the growth promotion operation, growth promotion operation was accepted only about the latter to the former without it being recognized.

Leave extraction and purification, and a gone oxidation enzyme with the present invention is used by materials containing a gone oxidation enzyme, but it is natural that quantity and quality of impurities included with a par oxidation enzyme by degree of the refinement are different. It examined how the impurities influenced plant growth promotion operation of a gone oxidation enzyme. A sample containing the gone oxidation enzyme that refinement degree was different is that is to say prepared, those plant growth promotion action was observed. As a result, activity was recognized in the sample that RZ value 0.1 were older than more than 106/g unit about a rice fir Gullah gone oxidation enzyme. In addition, a thing except a rice fir Gullah gone oxidation enzyme, the thing that, for example, was similar about West wasabi and a gone oxidation enzyme from a microbe were recognized.

Activity (U) and an RZ value of a gone oxidation enzyme are explained here.

Activity of a gone oxidation enzyme assumes guaiacol and oxygenated water ground substance, increase of absorbance of 470nm by enzyme reaction is measured. Quantity of enzyme which increased absorbance 0.001 in 30 degrees Celsius for one minute was had, and it was expressed as 1U (a unit).

RZ value is the ratio of absorbance in 275nm and 403nm, (A403nm/A275nm). This value presents the ratio of a hem content as opposed to a protein content in gone oxidation enzyme solution, it is with an index of the refinement degree of a gone oxidation enzyme. It is reported that the value is 3.04 in the case of a pure West wasabi gone oxidation enzyme.

A gone oxidation enzyme is really convenient for agriculture and the gardening area in a case to utilize a gone oxidation enzyme when it is concentrated the refinement. For example, transportation to the use spot is easy, and safekeeping to the place that is not too cruel that there is not of the environmental temperature and humidity rising too much again becomes easy.

A plant can extract a gone oxidation enzyme from a plant organization without distinction of a kind in what there is at a plant organization widely as had described earlier. However, a par oxidation enzyme is cheap, and it must be done extraction and purification to utilize growth promotion operation of a gone oxidation enzyme widely in agriculture and the gardening area.

When this point is considered, for a condition to extract a gone oxidation enzyme, that containing a gone oxidation enzyme abundantly, the thing that are easy to be obtained, a thing, the materials which there is abundantly are cheap can be given. West wasabi, Japanese Raphanus sativus, a fig, a rice fir Gullah can be nominated for the example, in addition, a thing of a microbe origin can be used, too. However, a gone oxidation enzyme hanging to the present invention is not limited by these kinds.

As discussed above it was extracted from a plant organization or a microbe, and a gone oxidation enzyme in the present invention was refined, and it was produced.

It may be just used, and the gone oxidation enzyme that the present invention was produced is mixed with the suitable carrier which seems to be liquid medicine and Cray, talc, the kaolin which made, in addition, solvents such as water dissolve, a drug is done to powdered medicine and granule, and it can be used.

A method of use of the present invention agent depends on a method to apply dipping processing of a cutting or powder or a thing of form of paste to the part that rooting is expected as for the stalk and phyllome scatter or seed dipping, a cutting. Furthermore, the present invention agent adds a surfactant so that leaf expression is worn, and a medicine is easy to seep in the stalk and phyllome scatter, and it can be used. In addition, it can be mingled with liquid fertilizer, a sterilizer, an insecticide, plant hormone.

It is desirable the use time of the present invention agent is taken for reproductive stage from vegetative stage, and to use, but is not limited to in particular.

Quantity of use as opposed to a plant of the present invention agent is described next.

It is decided to display the soft-headed oxidation enzyme activity value and use density in invention agent to show to that quantity of use of the present invention agent. Soft-headed oxidation enzyme activity in use time can be calculated by this, and quantity of necessary use gets possible to be given by the preferred density as against a plant.

Quantity of use of the present invention agent is different by means of a kind and a growth stage of a plant, a method of use or the use time, but, for purposes of example, quantity of use of the present invention agent having 108U/g,  $RZ = 0.1$  is described. When it is scattered on a stalk and phyllome of a plant with a water solution, 1 - 2000ppm (102 or more soft-headed oxidation enzyme activity,  $2 \times 105U/ml$ ) is preferable, and the density is 10-1500ppm with this agent (103 or more gone oxidation enzyme activity  $1.5 \times 105U/ml$ ). The density of this agent is 1-2000ppm in seed dipping, and preferably it is 10-1500ppm (103 or more gone oxidation enzyme activity  $1.5 \times 105U/ml$ ). Preferably it is 5-48 hours for 1-72 hours in dipping time of a seed. When it is used for a cutting, 1-2000ppm are preferable, and preferably the density to use for cutting dipping, powder or paste application is 3-24 hours for 1-48 hours in the cutting dipping time that is 10-10000ppm (soft-headed oxidation enzyme activity, 103 - 106U/ml). But when powder or paste was applied, it plants a cutting after application promptly.

#### [Effects of the Invention]

An effect using the present invention agent is growth promotion of a plant. Growth is promoted

to a stalk and phyllome part, the cause departments by a stalk and phyllome scattering the present invention agent on a kind of Chinese cabbage, green vegetables such as salad, a crop is enabled for the early stage, yields increase, too. In addition, there is Ken seedling upbringing by seed dipping and the stalk and phyllome scatter for husks such as a tomato, a cucumber, an eggplant, greens and fruits such as a green pepper and rice, wheat, increase of a harvest can be planned again.

[Examples]

The present invention is explained by an example as follows.

Example 1

Sowing did salad in Vagner pot of 1/4,000 ares that soil of a marketed flower was put in on March 15. On March 20, a gone oxidation enzyme water solution was scattered on a stalk and phyllome enough twice on March 27. In addition, distilled water was sprayed as no processing equally. Leaving ten individuals prepared well, growth was investigated on May 1. In addition, the manure gave N: 0.4g, P: 0.4g, K: 0.3g in compound fertilizer per one pot on March 28.

A used gone oxidation enzyme seems to be next.

A fir Gullah gone oxidation enzyme

It is extracted than a rice fir Gullah, and it is made

Enzyme activity 108U/g, RZ value 0.1 A West wasabi gone oxidation enzyme

It is extracted than West wasabi made in Sigma company, and it is made

Enzyme activity  $1.5 \times 10^9$ U/g, RZ value 0.3 A microbe gone oxidation enzyme

It is made than culture fluid of filamentous fungus *Arthomyces ramosus* made in Suntory Corporation

Enzyme activity  $4.8 \times 10^8$ U/g, RZ value 2.5

The stalk and phyllome scatter of a gone oxidation enzyme increased dried foods weight to a stalk and phyllome part, the cause departments.

Example 2

Sowing did a kind of Chinese cabbage in Vagner pot of 1/4,000 ares that a vermiculite was put in on March 31. On April 7, a gone oxidation enzyme water solution was scattered on a stalk and phyllome enough twice on April 17. In addition, distilled water was sprayed as no processing. Leaving 15 individuals prepared well, a growth state was investigated on May 19. In addition, the manure gave N: 0.4g, P: 0.4g, K: 0.3g in compound fertilizer per one pot on April 10. In addition, additional fertilizing assumed N: 0.1g, P: 0.1g, K: 0.1g in liquid fertilizer on May 9.

A used gone oxidation enzyme seems to be next.

A fir Gullah gone oxidation enzyme

Enzyme activity 106U/g, RZ value 0.1

A West wasabi gone oxidation enzyme

It is the same in example 1

The result was shown to table 2. A low fir Gullah gone oxidation enzyme of soft-headed oxidation

enzyme activity increased cereals weight to stalk and phyllome region, root region by what a stalk and phyllome sprayed same as active high West wasabi par oxidation enzyme.

#### Example 3

After doing sowing, it planted a seedling permanently in Vagner pot of 1/5,000 ares that were able to enter in soil of a flower by a 育苗 held tomato seedling (kind Taro Momo) on March 8 for 80 days. A gone oxidation enzyme water solution was scattered on a stalk and phyllome and fruit after permanent planting four times on April 11 on April 7 on March 18 on March 10. It was worked to nothing, and distilled water was sprayed. And, on May 9, fruit is harvested for 22 days for 18 days for 15 days for 12 days, it was investigated. In addition, one ward assumed four pots. In addition, the manure gave N: 0.8g, P: 0.8g, K: 0.6g per once in compound fertilizer four times on May 12 on April 14 on March 28 on March 9. A used gone oxidation enzyme is similar to example 1. The result was shown to table 3. A harvest of fruit and increase of 平均果重 per 1 were seen by the stalk and phyllome scatter of a gone oxidation enzyme.

#### Example 4

Dipping does a cucumber seed. (品種近成四葉胡瓜) in distilled water as no processing in a gone oxidation enzyme water solution again for two days, sowing did 3 on a bee of a diameter of 9cm that a vermiculite was put in promptly. It was June 1 on the sowing date and time. Leaving one good individual of a germination state, it was assumed one ward of five pots. The manure gave N: 0.16g, P: 0.16g, K: 0.12g per one bowl on June 13. And a growth state was investigated on July 13. A used gone oxidation enzyme is similar to example 1. The result was shown to table 4. Because dipping did a seed to a gone oxidation enzyme, cereals weight was increased to a stalk and phyllome part, the cause departments.

#### Example 5

A mark printed on the unsealing line of a green sprig of a metasequoia was planted a cutting of to Kanuma soil after dipping in distilled water as no processing in a gone oxidation enzyme water solution promptly again for eight hours. A state of rooting was investigated on August 24 after 60th. It is assumed one ward of 20, and it is two constituency system にとした.

A rice fir Gullah gone oxidation enzyme (108 active value unit /g RZ value 0.1) was used. The result was shown to table 5. Rooting was promoted by dipping disposal of gone oxidation enzymes.

#### Example 6

Paddy-rice (kind Sasanishiki) was crossed on May 15, and sowing was done in 粒状培土 0. And it was transplanted in a pot of 1/5,000 ares that it was drawn on June 15, and 粒状培土 0 was put in. On May 24, distilled water was scattered on a stalk and phyllome as no processing with gone oxidation enzyme solution enough again on June 21 on June 1. And an above ground part was harvested on October 5, and yield investigation was performed. It was assumed one ward of three pots. In addition, it wants to be used, and it faces each other, and is contained N: 0.6g, P: 1.2g, K: 1.1g per 1.7kg a manure ingredient by 粒状培土 0, quantity of manure ingredient per one pot used 培土 so that it was with N: 1.2g, P: 2.2g. In addition, N: 0.3g, P: 0.08g, K: 0.3g were given per one pot in compound fertilizer on August 1. A used gone oxidation enzyme is similar

to example 1. The result was shown to table 6. It increased a yield that a stalk and phyllome sprayed a gone oxidation enzyme.

#### Example 7

Dipping did a paddy-rice (kind Sasanishiki) kind fir in distilled water as no processing in gone oxidation enzyme solution again for two days. And it was transplanted in a pot of 1/5,000 ares that it was drawn on May 15, and 粒状培土 0 was put in. And an above ground part is harvested on October 5, yield investigation was performed. In addition, fertilising is similar to example 6. A used gone oxidation enzyme is similar to example 1. The result was shown to table 7. It increased a yield that dipping did a kind fir in a gone oxidation enzyme water solution.

#### Example 8

After having washed with water with a threshed rice seed (Sasanishiki) well, dipping was done in 0.3% next zinc bare acid sodium solution for 30 minutes, and it was sterilized. After having washed with water with sterilization water well, entered the laboratory dish which they dried, and spread filter paper by 50, and by 10ml added enzyme liquid of each density (100ppm, 10ppm, 1ppm) about various enzymes liquid which sanitized filtration (a rice fir Gullah gone oxidation enzyme, a West wasabi gone oxidation enzyme, a microbe gone oxidation enzyme). Boiled 10ppm enzyme liquid was used as a contrast ward for sterilization water and 30.

It makes it is kept warm at 30 degrees Celsius for 72 hours, and germinate, an extended bud and length of a root were measured. This result is shown to table 8.

Activity value of each used enzyme,

A rice fir Gullah gone oxidation enzyme

$5.7 \times 10^9 \text{U/g}$ , RZ value 1.59

A West wasabi gone oxidation enzyme

$1.9 \times 10^9 \text{U/g}$ , RZ value 0.8

A microbe gone oxidation enzyme

$4.8 \times 10^8 \text{U/g}$ , RZ value 2.5

It was met.

Each examination ward was provided with a contrast ward so that the examination date and time on each enzyme were different.

Neither enzyme solution which deactivated soft-headed oxidation enzyme activity by heat-treating showed growth promotion operation, but growth promotion operation was recognized about the enzyme solution which, on the other hand, was not heat-treated.



(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11)特許出願公告番号

特公平7-91169

(24) (44)公告日 平成7年(1995)10月4日

(51)Int.Cl.<sup>8</sup>  
A 0 1 N 63/00

識別記号 庁内整理番号  
D

F I

技術表示箇所

請求項の数1(全 7 頁)

(21)出願番号 特願平2-46646  
(22)出願日 平成2年(1990)2月26日  
(65)公開番号 特開平3-251510  
(43)公開日 平成3年(1991)11月11日

(71)出願人 999999999  
旭化学工業株式会社  
大阪府大阪市東住吉区北田辺4丁目15番1号  
(71)出願人 999999999  
株式会社高研  
東京都新宿区下落合3丁目5-18  
(71)出願人 999999999  
株式会社迫田化学開発研究所  
兵庫県神戸市東灘区住吉本町1丁目23番24号  
(72)発明者 大原 昭雄  
奈良県生駒郡斑鳩町稲葉西1丁目3-22  
(74)代理人 弁理士 尾関 弘

審査官 今村 玲英子

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 植物生長促進剤

【特許請求の範囲】

【請求項1】実質的にエチレンの作用が現出しない範囲でパーオキシダーゼを有効成分として含有する植物生長促進剤。

【発明の詳細な説明】

〔産業上の利用分野〕

本発明は植物生長促進剤に関する。更に詳しくはパーオキシダーゼを有効成分とする植物生長促進剤に関する。

〔従来の技術〕

従来、植物生長調節剤として、オーキシン類、ジベリレン類、サイトカイニン類、エチレン等の植物ホルモンが一般に知られている。これらの植物ホルモンは、植物に対して微量で様々な効果をもたらすことができる反面、過剰に与えると悪影響を及ぼし、また植物の生育段階や植物の種類、取り巻く環境の違いによりホルモンの種類

や適用濃度を厳密に決めなければならない等の問題がある。

〔発明が解決しようとする課題〕

本発明が解決しようとする課題は、従来の植物生長調節剤のうち、特に植物生長を促進する促進剤の上記難点を解決することである。

〔課題を解決するための手段〕

本発明者らは上記問題点を解決するために、植物生長促進剤をとしてその促進作用の優れたものを見出すべく鋭意研究を重ねた結果、パーオキシダーゼが植物生長促進作用を有することを見出し本発明を完成するに至った。

〔発明の作用並びに構成〕

パーオキシダーゼは植物組織、動物組織、血液等に広く分布しており、いくつかの微生物が分泌することも従来から確認されている。その中で特に植物組織中に存在す

るパーオキシダーゼについては古くから研究がなされており、その生理的役割については、多くの報告がなされている。それらを要約すると次のようである。

(1) 植物体が病原菌に感染すると組織中に含まれるパーオキシダーゼの活性が上昇することが報告されている。その具体例としては、*Phytophthora citrophthora* や *Diplodia natalensis* 等の所謂腐敗病に感染したネーブルオレンジの組織に於いて、パーオキシダーゼ、セルラーゼ、カタラーゼ、ポリガラクトナーゼ等の酵素活性が上昇すること、トマトモザイクウイルスに感染したトマト葉に於いて炭水化物及び還元糖の含量の増加とともにパーオキシダーゼの活性が上昇すること、大豆モザイクウイルスに感染した大豆組織中では、感染の後期にパーオキシダーゼ活性が上昇すること等の報告を挙げることができる。

(2) 植物病原菌に対する抵抗性が高い品種ほどパーオキシダーゼの活性が高いことが報告されている。その具体例として、不稔性モザイク病に抵抗性を示すハトエンドウには特有のパーオキシダーゼと蛋白質が存在していること、水稻に於いてはいもち病に対して抵抗性の高い品種と低い品種にいもち病菌を接種した場合前者の組織中でのパーオキシダーゼ活性の上昇速度が後者に比較して急速であること等の報告を挙げることができる。

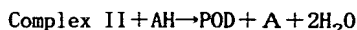
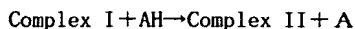
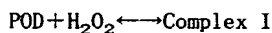
(3) 植物ホルモンの分泌、調節にはパーオキシダーゼが関係しているという報告がなされている。その具体例として、ヒノキにスミチオン(殺虫剤)処理すると、非感受性ヒノキではパーオキシダーゼがスミチオンにより活性化されることなく、むしろ阻害されるため内生エチレン生成と落葉が抑制されること、イネ葉をオーキシン類やエチレンで処理すると、パーオキシダーゼ活性が上昇し、発病が抑制されること、レイシーを微量のエチレンで処理することにより果皮中のパーオキシダーゼやポリフェノールオキシダーゼの活性が上昇すること等の報告を挙げることができる。

(4) 植物の分化や生長にパーオキシダーゼが関与していることを示唆する報告がなされており、パーオキシダーゼのインドール酢酸酸化活性は、植物の根の伸長や分化が進むにつれ発現するということである。

以上植物組成中でのパーオキシダーゼの挙動については様々の報告がなされているが、植物体やその種子に直接パーオキシダーゼを与えた時の植物体の反応についての報告はなされていない。そこで本発明者らは、植物体やその種子にパーオキシダーゼを外部から与え、その反応を観察した結果、パーオキシダーゼは植物生長促進作用を有することを発見し、本発明を完成するに至った。尚ここでいう植物生長促進作用とは、広く植物の生長を促進する作用をいい、たとえば植物の生長の促進、発芽発根の促進、果実の肥大促進、穀物の収量増大等が例示できる。

次に本発明にかかるパーオキシダーゼについて説明す

る。パーオキシダーゼは3価の鉄イオンを含むヘム蛋白質であり、過酸化水素や有機過酸化物の存在下で種々の化合物の酸化を触媒する酵素である。たとえば西洋ワサビのパーオキシダーゼの作用機作について、Chanceは次のように説明している。



ここでPOD:パーオキシダーゼ

AH:還元型供与体

A:酸化型供与体

パーオキシダーゼはこのように過酸化物の存在下で種々の化合物の酸化反応を触媒する酵素である。次にこの植物生長促進作用がパーオキシダーゼによるものであることを確認するために、加熱処理によりパーオキシダーゼを失活させたものと、加熱処理しないものを植物に与え、それらの植物生長促進作用を観察した。その結果、前者には生長促進作用は認められず、後者についてのみ生長促進作用が認められた。

本発明によるパーオキシダーゼは、パーオキシダーゼを含有している材料から抽出・精製され、使用されるが、精製の程度によりパーオキシダーゼと共に含まれる不純物の量や質が異なってくるのは当然である。その不純物がパーオキシダーゼの植物生長促進作用にどのように影響するかを調べた。即ち、精製程度が異なったパーオキシダーゼを含有する試料を調製し、それらの植物生長促進作用を観察した。その結果、イネモミガラパーオキシダーゼについては活性が $10^6/\text{g}$ ユニット以上、RZ値が0.1以上の試料で認められた。尚イネモミガラパーオキシダーゼ以外のもの、たとえば西洋ワサビや微生物からのパーオキシダーゼについても同様のことが認められた。ここでパーオキシダーゼの活性(U)とRZ値について説明する。

パーオキシダーゼの活性は、グアヤコールと過酸化水素を基質とし、酵素反応による470nmの吸光度の増加を測定する。30℃に於いて1分間に吸光度を0.001増加させる酵素量をもって1U<sub>j</sub>(ユニット)として表した。

RZ値は、275nmと403nmに於ける吸光度の比である( $A_{403\text{nm}}/A_{275\text{nm}}$ )。この値は、パーオキシダーゼ溶液中の蛋白質含量に対するヘム含量の比を表しており、パーオキシダーゼの精製度の指標となる。純粋な西洋ワサビパーオキシダーゼの場合その値は3.04であると報告されている。

実際に農業や園芸方面にパーオキシダーゼを利用する場合に於いても、パーオキシダーゼは精製・濃縮されていると好都合である。たとえば、使用現場への運搬が容易であり、また環境温度や湿度が上昇し過ぎることのないような過酷でない場所への保管が容易となる。

先に述べたように、パーオキシダーゼは植物組織に広く存在しているので、植物に種類を問わず、植物組織から

抽出できる。しかし、パーオキシダーゼの生長促進作用を農業及び園芸方面に広く利用するためには、パーオキシダーゼが安価に抽出・精製されなければならない。この点を考慮すると、パーオキシダーゼを抽出する条件としては、パーオキシダーゼを多量に含有していること、入手しやすいこと、多量に存在すること、材料が安価であること等を挙げることができる。その例としては、西洋ワサビ、日本二十日大根、イチジク、イネモミガラ等を挙げることができ、その他微生物由来のものも使用することができる。しかし、本発明にかかるパーオキシダーゼは、これらの種類に限定されるものではない。

以上説明したように本発明に於けるパーオキシダーゼは、植物組織または微生物から抽出・精製し製造されたものである。

本発明は製造されたパーオキシダーゼをそのまま使用しても良いし、また水等の溶媒に溶解させた液剤やクレイ、タルク、カオリンのような適当な担体と混合し、粉剤や粒剤に製剤し使用することもできる。

本発明剤の使用方法は茎葉散布あるいは種子浸漬、挿し木に関しては、挿し穂の浸漬処理あるいは粉末又はペースト状のものを発根が予想される部分へ塗布する方法による。更に本発明剤は茎葉散布に於いて薬剤が葉面附着浸透しやすいように界面活性剤を添加して使用することも可能である。また液体肥料、殺菌剤、殺虫剤、植物ホルモんと共に混用することも可能である。

本発明剤の使用時期は栄養生長期から生殖生長期にかけて使用することが望ましいが、特に限定されるものではない。

次に本発明剤の植物に対する使用量について述べる。

本発明剤の使用量を示すために、発明剤中のパーオキシダーゼ活性値と使用濃度を表示することとする。これにより使用時に於けるパーオキシダーゼ活性が計算でき必要な使用量を植物に対して好ましい濃度で与えることが可能となる。

本発明剤の使用量は、植物の種類や生育ステージ、使用方法または使用時期によって異なるが、例として $10^8\text{U/g}$ 、 $\text{RZ}=0.1$ を持つ本発明剤の使用量について述べる。水溶液で植物の茎葉に散布する場合は、本剤を濃度が $1\sim 2000\text{ppm}$ （パーオキシダーゼ活性として $10^2\sim 2\times 10^5\text{U/ml}$ ）、好ましくは $10\sim 1500\text{ppm}$ （パーオキシダーゼ活性 $10^3\sim 1.5\times 10^5\text{U/ml}$ ）である。種子浸漬に於いては本剤の

濃度は $1\sim 2000\text{ppm}$ であり、好ましくは $10\sim 1500\text{ppm}$ （パーオキシダーゼ活性 $10^3\sim 1.5\times 10^5\text{U/ml}$ ）である。種子の浸漬時間は $1\sim 72$ 時間であり、好ましくは $5\sim 48$ 時間である。挿し木に使用する場合は、挿し穂浸漬、粉末又はペースト塗布に使用する濃度は $1\sim 2000\text{ppm}$ 好ましくは $10\sim 10,000\text{ppm}$ （パーオキシダーゼ活性として $10^3\sim 10^6\text{U/ml}$ ）であり、挿し穂浸漬時間は $1\sim 48$ 時間であり、好ましくは $3\sim 24$ 時間である。但し粉末又はペーストを塗布した時は塗布後直ちに挿し木を行う。

#### 〔発明の効果〕

本発明剤を使用した効果は、植物の生長促進である。小松菜、サラダ菜のような葉菜類に本発明剤を茎葉散布することにより、茎葉部、根部共に生長が促進され、早期収穫が可能となり、収量も増大する。またトマト、キュウリ、ナス、ピーマンのような果菜類やイネ、ムギ等の穀類に対しては種子浸漬や茎葉散布により健苗育成ができ、また収穫量の増大を図ることができる。

#### 〔実施例〕

以下実施例により本発明を説明する。

##### 実施例 1

市販されている花の土を入れた $1/4000$ アールのワグネルポットにサラダ菜を3月15日に播種した。3月20日、3月27日に2回パーオキシダーゼ水溶液を十分に茎葉に散布した。また無処理として蒸留水を同様に散布した。良くそろった10個体を残し、生育を5月1日調査した。尚肥料は3月28日に1ポット当たり化成肥料で $\text{N}:0.4\text{g}$ 、 $\text{P}:0.4\text{g}$ 、 $\text{K}:0.3\text{g}$ を与えた。

使用したパーオキシダーゼは次のようである。

・モミガラパーオキシダーゼ

イネモミガラより抽出作製

酵素活性  $10^8\text{U/g}$ 、 $\text{RZ}$ 値 0.1

・西洋ワサビパーオキシダーゼ

Sigma社製 西洋ワサビより抽出作製

酵素活性  $1.5\times 10^9\text{U/g}$ 、 $\text{RZ}$ 値 0.3

・微生物パーオキシダーゼ

サントリー社製 糸状菌 *Arthomyces ramosus* の培養液より作製

酵素活性  $4.8\times 10^8\text{U/g}$ 、 $\text{RZ}$ 値 2.5

パーオキシダーゼの茎葉散布により、茎葉部、根部共に乾物重量が増加した。

第 1 表

パーオキシダーゼの種類と使用濃度		無処理	イネモミガラパーオキシダーゼ $100\text{ppm}$	西洋ワサビパーオキシダーゼ $10\text{ppm}$	微生物パーオキシダーゼ $10\text{ppm}$	微生物パーオキシダーゼ $100\text{ppm}$
散布液中のパーオキシダーゼ活性 (ユニット/ $\text{ml}$ )		0	$10^4$	$1.5\times 10^4$	$4.8\times 10^3$	$4.8\times 10^4$
茎葉部	乾物重/1株(g)	0.358	0.492	0.546	0.401	0.433
	相対比	100	137	153	112	121

パーオキシダーゼの種類と使用濃度		無処理	イネモミガラパーオキシダーゼ 100ppm	西洋ワサビパーオキシダーゼ 10ppm	微生物パーオキシダーゼ 10ppm	微生物パーオキシダーゼ 100ppm
根部	乾物重/1株(g)	0.175	0.198	0.183	0.189	0.222
	相対比	100	113	105	108	127

#### 実施例 2

パーミキュライトをいれた1/4000アールのワグネルポットに小松菜を3月31日に播種した。4月7日、4月17日2回パーオキシダーゼ水溶液を茎葉に十分に散布した。また無処理として蒸留水を散布した。良くそろった15個体を残し、5月19日に生育状態を調査した。尚肥料は4月10日1ポット当たり化成肥料でN:0.4g、P:0.4g、K:0.3gを与えた。また5月9日に液体肥料でN:0.1g、P:0.1g、K:0.1gを追肥した。

使用したパーオキシダーゼは次のようである。

- ・モミガラパーオキシダーゼ  
酵素活性  $10^6$ U/g、RZ値 0.1
- ・西洋ワサビパーオキシダーゼ

実施例 1 に同じ

結果は第2表に示した。パーオキシダーゼ活性の低いモミガラパーオキシダーゼも活性の高い西洋ワサビパーオキシダーゼと同様に茎葉散布することにより、茎葉部、根部共に穀物重量を増加させた。

第 2 表

パーオキシダーゼの種類と使用濃度		無処理	イネモミガラパーオキシダーゼ 1000ppm	イネモミガラパーオキシダーゼ 10000ppm	西洋ワサビパーオキシダーゼ 10ppm	西洋ワサビパーオキシダーゼ 100ppm
散布液中のパーオキシダーゼ活性 (ユニット/ml)		0	$10^3$	$10^4$	$1.5 \times 10^4$	$1.5 \times 10^5$
茎葉部	乾物重/1株(g)	0.474	0.623	0.652	0.553	0.555
	相対比	100	131	138	116	117
根部	乾物重/1株(g)	0.089	0.108	0.122	0.098	0.103
	相対比	100	121	137	110	116

#### 実施例 3

播種してから80日間育苗したトマト苗（品種ももたろう）を3月8日に花の土を入れた1/5000アールのワグネルポットに定植した。定植後3月10日、3月18日、4月7日、4月11日に4回パーオキシダーゼ水溶液を茎葉及び果実に散布した。無処理して蒸留水を散布した。そして5月9日、12日、15日、18日、22日、25日、29日、31日、6月5日、9日、15日、22日、26日に果実を収穫し、調査を行った。尚1区は4ポットとした。また肥料は化成肥料で1回当たりN:0.8g、P:0.8g、K:0.6gを3月9日、3月28日、4月14日、5月12日に4回与えた。使用したパーオキシダーゼは実施例1と同様である。結果は第3表に示した。パーオキシダーゼの茎葉散布により果実の収穫量及び1個当たりの平均果重の増加が見られた。

第 3 表

パーオキシダーゼの種類及び使用濃度	無処理	イネモミガラパーオキシダーゼ 100ppm	西洋ワサビパーオキシダーゼ 10ppm
散布液中のパーオキシダーゼ活性(ユニット)	0	$10^4$	$1.5 \times 10^4$
果実の全収穫量(相対比)(g)	6817 (100)	7659 (112)	7146 (105)
1個当たりの平均果重(相対比)(g)	134 (100)	142 (106)	146 (109)

#### 実施例 4

キュウリ種子（品種 近成四葉胡瓜）をパーオキシダーゼ水溶液に、また無処理として蒸留水に2日間浸漬し、直ちにパーミキュライトを入れた直径9cmの鉢に3粒を播種した。播種日時は6月1日であった。発芽状態の良好な1個体を残し、1区5ポットとした。肥料は6月13日に1鉢当たりN:0.16g、P:0.16g、K:0.12gを与えた。そして7月13日に生育状態を調査した。使用したパーオキシダーゼは実施例1と同様である。結果は第4表に示した。種子をパーオキシダーゼに浸漬することにより茎葉部、根部共に穀物重量が増加した。

第 4 表

パーオキシダーゼの種類と使用濃度		無処理	微生物パーオキシダーゼ 100ppm	イネモミガラパーオキシダーゼ 100ppm	イネモミガラパーオキシダーゼ 1000ppm	西洋ワサビパーオキシダーゼ 10ppm
浸漬液中のパーオキシダーゼ活性 (ユニット/ml)		0	$4.8 \times 10^4$	$10^4$	$10^5$	$1.5 \times 10^4$
茎葉部	乾物重/1株(g)	0.269	0.291	0.312	0.300	0.294
	相対比	100	108	115	112	109
根部	乾物重/1株(g)	0.045	0.048	0.052	0.053	0.059
	相対比	100	107	116	118	131

実施例 5

メタセコイアの緑枝の切口をパーオキシダーゼ水溶液に、また無処理として蒸留水に8時間浸漬後直ちに鹿沼土に挿し木を行った。(8月25日)。60日後の8月24日に発根の状態を調査した。1区20本とし2区制にとし

た。

稲モミガラパーオキシダーゼ(活性値  $10^8$  ユニット/g RZ値 0.1)を使用した。結果は第5表に示した。パーオキシダーゼの浸漬処理により発根が促進された。

第 5 表

パーオキシダーゼの種類と使用濃度	無処理	イネモミガラパーオキシダーゼ 10ppm	イネモミガラパーオキシダーゼ 100ppm	イネモミガラパーオキシダーゼ 1000ppm	イネモミガラパーオキシダーゼ 10000ppm
浸漬液中のパーオキシダーゼ活性 (ユニット/ml)	0	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$
活着数/1区	16.0	16.0	18.5	16.0	16.5
最大根長/1個体	2.5	2.5	2.8	2.5	2.8
根数/1個体	4.5	5.0	5.0	5.0	4.5

実施例 6

5月15日に水稻(品種 ササニシキ)をくみあい粒状培土Oに播種した。そして6月15日にくみあい粒状培土Oを入れた1/5000アールのポットに移植を行った。5月24日、6月1日、6月21日にパーオキシダーゼ溶液を、また無処理として蒸留水を茎葉に充分散布した。そして10月5日に地上部を刈り取り収量調査を行った。1区3ポットとした。尚使用したくみあい粒状培土Oには肥料成

分が1.7kg当たりN:0.6g、P:1.2g、K:1.1g含有されており、1ポット当たりの肥料成分量がN:1.2g、P:2.2gとなるように培土を使用した。また8月1日に化成肥料で1ポット当たりN:0.3g、P:0.08g、K:0.3gを与えた。使用したパーオキシダーゼは実施例1と同様である。結果は第6表に示した。パーオキシダーゼを茎葉散布することにより収量が増加した。

第 6 表

パーオキシダーゼの種類と使用濃度	無処理	イネモミガラパーオキシダーゼ 10ppm	イネモミガラパーオキシダーゼ 100ppm	イネモミガラパーオキシダーゼ 1000ppm	西洋ワサビパーオキシダーゼ 10ppm	西洋ワサビパーオキシダーゼ 100ppm
散布液中のパーオキシダーゼ活性 (ユニット/ml)	0	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$1.5 \times 10^4$	$1.5 \times 10^5$
1ポット当たりの精玄米重(相対比) (g)	27.5 (100)	32.1 (117)	32.4 (118)	33.6 (122)	38.4 (140)	43.1 (157)

実施例 7

水稻(品種 ササニシキ)種モミをパーオキシダーゼ溶液に、また無処理として蒸留水に2日間浸漬した。そして5月15日くみあい粒状培土Oを入れた1/5000アールの

ポットに移植した。そして10月5日に地上部を刈り取り、収量調査を行った。尚施肥は実施例6と同様である。使用したパーオキシダーゼは実施例1と同様である。結果は第7表に示した。種モミをパーオキシダーゼ

水溶液に浸漬することにより収量が増加した。

第 7 表

パーオキシダーゼの種類と使用濃度	無処理	イネモミガラパーオキシダーゼ 10ppm	イネモミガラパーオキシダーゼ 100ppm	イネモミガラパーオキシダーゼ 1000ppm	西洋ワサビパーオキシダーゼ 10ppm	西洋ワサビパーオキシダーゼ 100ppm
浸漬液中のパーオキシダーゼ活性(ユニット/ml)	0	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	1.5×10 <sup>4</sup>	1.5×10 <sup>5</sup>
1ポット当たりの精玄米重(相対比)(g)	29.0 (100)	34.0 (117)	35.3 (122)	41.0 (141)	34.2 (118)	32.8 (113)

#### 実施例 8

脱穀した稲種子(ササニシキ)をよく水洗した後、0.3%次亜鉛素酸ナトリウム溶液に30分浸漬して殺菌した。滅菌水でよく水洗した後、乾燥し濾紙を敷いたシャーレに50粒ずつ入れ、濾過除菌した各種酵素液(イネモミガラパーオキシダーゼ、西洋ワサビパーオキシダーゼ、微生物パーオキシダーゼ)について各濃度(100ppm、10ppm、1ppm)の酵素液を10mlずつ添加した。対照区として滅菌水及び30分煮沸した10ppm酵素液を用いた。30℃で72時間保温して発芽させ、伸長した芽及び根の長さを測定した。この結果を第8表に示す。

使用した各酵素の活性値は、

・イネモミガラパーオキシダーゼ

5.7×10<sup>9</sup>U/g、RZ値 1.59

・西洋ワサビパーオキシダーゼ

1.9×10<sup>9</sup>U/g、RZ値 0.8

・微生物パーオキシダーゼ

4.8×10<sup>8</sup>U/g、RZ値 2.5

であった。

各々の酵素についての試験日時が違うために、各々の試験区に対照区を設けた。

パーオキシダーゼの種類		イネモミガラパーオキシダーゼ	西洋ワサビパーオキシダーゼ	微生物パーオキシダーゼ
10ppm	芽長	11.6 (101)	13.5 (118)	15.4 (114)
	根長	27.9 (103)	31.4 (112)	44.7 (133)
1ppm	芽長	12.8 (111)	13.5 (118)	14.2 (105)
	根長	27.1 (100)	29.0 (104)	34.0 (101)
煮沸酵素液	芽長	11.3 (98.2)	11.9 (104)	13.6 (101)
	根長	26.8 (99.2)	27.2 (97.1)	32.9 (98.2)
対照(水)	芽長	11.5 (100)	11.4 (100)	13.5 (100)
	根長	27.0 (100)	28.0 (100)	33.5 (100)
試験日時		1月8日～1月11日	1月13日～1月16日	1月19日～1月22日

第 8 表

パーオキシダーゼの種類	イネモミガラパーオキシダーゼ	西洋ワサビパーオキシダーゼ	微生物パーオキシダーゼ
100ppm	芽長 12.7 (110)	12.0 (105)	14.2 (105)
	根長 29.5 (109)	29.0 (104)	35.0 (104)

( )内数値は対照を100としたとき相対値であり、また数値は全て(mm)を示す。加熱処理によりパーオキシダーゼ活性を失活させた何れの酵素溶液も生長促進作用を示さなかったが、一方加熱処理をしない酵素溶液については生長促進作用が認められた。

フロントページの続き

(72)発明者 阿蘇 雄  
山形県鶴岡市山王町12-46

(72)発明者 迫田 直一  
兵庫県神戸市東灘区住吉本町1丁目23番24号

(56)参考文献 特開 昭47-1305 (J P, A)